

DOI: 10.17117/na.2016.09.02.148

<http://ucom.ru/doc/na.2016.09.02.148.pdf>

Поступила (Received): 30.09.2016

Присный А.А.
Морфофункциональные свойства гемоцитов
южнорусского тарантула (*Lycosa singoriensis* Laxmann,
1770) в норме и при воздействии осмотической нагрузки

Prisny A.A.
Morphological and functional properties of South
Russian tarantula (*Lycosa singoriensis* Laxmann, 1770)
hemocytes in norm and under of the osmotic load

*Представлена характеристика пяти типов гемоцитов Паукообразных. Описаны морфофункциональные изменения гемоцитов южнорусского тарантула (*Lycosa singoriensis*) при воздействии сред, отличных от физиологически нормальной. Установлено значение адаптационных механизмов гемоцитов в реакциях гомеостаза*

Ключевые слова: гемоциты, фагоцитоз, гипо- и гиперосмотическая нагрузка

*The article describes characteristics of the five types of Spiders hemocytes. Described morphological and functional changes of South Russian tarantula (*Lycosa singoriensis*) hemocytes when exposed to environments different from physiologically normal. Set adjustment mechanisms of the hemocytes in the homeostasis reactions*

Key words: hemocytes, phagocytosis, hypo- and hyperosmotic stress

Присный Андрей Андреевич

Кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник

Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко

г. Белгород, ул. Курская, 4

Prisny Andrey Andreevich

Candidate of Biology Science, Associate Professor, Senior Researcher

All-Russian research institute for experimental veterinary medicine named Ya.R. Kovalenko Belgorod, Kurskaya st., 4

Гемоциты и система циркуляции членистоногих представляют особый интерес с точки зрения сравнительной физиологии, поскольку у представителей этого типа хорошо развита циркуляторная система. Обычно исследуют фиксированные различными способами клетки, а их классификация базируется на изучении преимущественно морфологических признаков [1, 4]. Исследование морфофизиологических показателей и особенностей функциональной активности клеток внутренней среды организма в условиях осмотической нагрузки позволяет оценить адаптационные возможности отдельных типов клеток и их роль в поддержании гомеостаза.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования служили гемоциты *Lycosa singoriensis* [5], предварительно классифицированные по

морфофункциональным особенностям на 5 типов [3]. Полученную гемолимфу делили на три части, к каждой части гемолимфы добавляли 10 мкл раствора NaCl определенной концентрации (гипотонический – 0,47 % NaCl, изотонический раствор – 0,97 % NaCl, гипертонический – 1,5 %). По истечении 30 мин инкубации осуществляли регистрацию изображений клеток с использованием программного приложения NIS-Elements (Nikon) инвертированного светового микроскопа Nikon Eclipse Ti-E. Анализ полученных изображений осуществляли при использовании комплекса аппаратно-программной визуализации морфологических препаратов, анализа и регистрации оптических и морфологических показателей «ВидеоТест-Размер 5.0» (Санкт-Петербург, Россия). На изображениях измеряли габаритные размеры клеток и ядер. Одновременно проводили исследование клеток с использованием атомно-силового микроскопа Интегра Вита NT-MDT с получением данных о размерах клеток в трёх измерениях. Используя значения площади поверхности, осуществляли оценку резервных возможностей мембраны гемоцитов [2]. Для изучения фагоцитоза использовали инвертированный микроскоп Nikon Eclipse Ti-E в режиме дифференциально-интерференционного контраста. Объектом фагоцитоза выбраны живые пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Рассчитывали следующие показатели: фагоцитарный индекс – процент гемоцитов, участвовавших в фагоцитозе из числа сочитанных фагоцитов; фагоцитарное число – среднее число нейтрализованных одним фагоцитом клеток *S. cerevisiae*; индекс адгезии – процент фагоцитов, имеющих на своей поверхности адгезированные микроорганизмы, по отношению к общему числу фагоцитов.

Результаты исследования и их обсуждение. Амебоциты *L. singoriensis* представлены относительно крупными клетками (8-11 μm) с псевдоподиями по периферии. Цитоплазма амебоцитов содержит вакуоли различных размеров и мелкие гранулы. Амебоциты обладают способностью распластываться на подложке и амебоидно передвигаться. Ядро большое, овальное, обычно располагается на периферии клетки, но из-за нестабильной формы гемоцита может менять положение. При инкубации в гипоосмотическом растворе амебоциты *L. singoriensis* практически не меняют форму и линейные размеры, однако псевдоподии образуются в меньшем числе, и частично снижается двигательная активность клетки. При инкубации в гипертоническом растворе осажденные на субстрат амебоциты уменьшаются в размерах и передвигаются по стеклу, не распластываясь. Установлено, что линейные размеры амебоцитов представителей *L. singoriensis* уменьшаются на 12 %.

Гранулоциты – округлые клетки, не способны к образованию псевдоподий. В цитоплазме находится множество гранул различного размера. Ядро округлое, занимает периферическое положение. Размеры гранулоцитов в изотонических условиях составляют 8-12 μm . При инкубации в условиях осмотической нагрузки гранулоциты *L. singoriensis* преимущественно не меняют форму и линейные размеры.

Агрегатоциты – полиморфные крупные клетки с центрально расположенным ядром, которое окружено мелкозернистой цитоплазмой. Агрегатоциты

способны формировать агрегаты с другими клетками этого типа. Размеры агрегатоцитов в изотонических условиях варьируют от 11 до 14 μm . При инкубации в гипоосмотическом растворе агрегатоциты *L. singoriensis* не меняют форму и линейные размеры.

Сферулоциты – относительно крупные полиморфные клетки. Цитоплазма заполнена множеством везикул. Ядра сферулоцитов преимущественно небольшие, чаще овальной или бобовидной формы, располагаются эксцентрично. Сферулоциты не способны к образованию псевдоподий. Размеры сферулоцитов в изотонических условиях у представителей *L. singoriensis* варьируют от 9 до 10 μm . При инкубации сферулоцитов в условиях осмотической нагрузки достоверных изменений линейных размеров клеток не установлено.

Эноцитоиды – относительно крупные неподвижные клетки овальной или округлой формы. Ядра эноцитоидов расположены эксцентрично. Цитоплазма гомогенная, может содержать различные комплексы канальцев, гранул или кристаллов. Размеры эноцитоидов в изотонических условиях у *L. singoriensis* варьируют от 6 до 7 μm . При инкубации эноцитоидов в условиях осмотической нагрузки достоверных изменений линейных размеров клеток не установлено.

Амебоциты представителей типа Arthropoda являются клетками, способными к фагоцитарным реакциям. Значения фагоцитарного индекса, фагоцитарного числа и индекса адгезии амебоцитов *L. singoriensis* в изотонических условиях составляют 0,56 у.е., $2,75 \pm 1,74$ у.е. и 0,83 % соответственно. При воздействии осмотической нагрузки достоверных изменений показателей фагоцитарной активности амебоцитов представителей *L. singoriensis* не зафиксировано.

Для выявления способности гемоцитов представителей *L. singoriensis* адаптироваться в условиях осмотической нагрузки определяли значения относительного мембранного резерва и интенсивности использования мембранного резерва. Относительный мембранный резерв амебоцитов составляет $11,56 \pm 0,58 \mu\text{m}^2$, гранулоцитов – $37,48 \pm 0,94 \mu\text{m}^2$; интенсивность использования относительного мембранного резерва у амебоцитов – 19 %, у гранулоцитов – 27 %. Агрегатоциты, сферулоциты и эноцитоиды *L. singoriensis* не задействуют мембранный резерв в условиях осмотической нагрузки.

Заключение

Воздействие осмотической нагрузки приводит к проявлению у гемоцитов *L. singoriensis* нескольких реакций. Первая – это возрастание количества складок на поверхности клеточной мембраны, что происходит в том случае, если не использован весь мембранный резерв. Вторая реакция заключается в увеличении клеточного объема и усилении подвижности. Третий вариант адаптации к осмотической нагрузке – это потеря способности к активному перемещению, поверхность клеточной мембраны становится складчатой, гемоциты перестают образовывать псевдоподии, приобретают округлую форму.

Список используемых источников:

1. Галактионов В.Г. Эволюционная иммунология. М.: ИКЦ «Академкнига», 2005. 408 с.
2. Орлов С.Н., Новиков К.Н. Регуляция объема клеток: механизмы, сопряженные клеточные реакции и патофизиологическое значение. Физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 1996. Т. 82 (8-9). С. 1-15.

3. Присный А.А. Исследование элементов клеточного иммунитета беспозвоночных животных. *Аллергология и иммунология*. 2014. Т. 15. №3. С. 225.
4. Ракочий В.К., Громик О.А. Межпопуляционная изменчивость клеточного состава гемолимфы моллюсков рода *Helix* L. запада Украины О.А. *Экология, эволюция и систематика животных: Материалы Всероссийской конференции с международным участием. Рязань, 2009. С. 122-123.*
5. Тыщенко В.П. *Определитель пауков европейской части СССР. Л.: Наука, 1971. 281 с.*

© 2016, Присный А.А.

*Морфофункциональные свойства гемоцитов южнорусского тарантула (*Lycosa singoriensis* Laxmann, 1770) в норме и при воздействии осмотической нагрузки*

© 2016, Prisny A.A.

*Morphological and functional properties of South Russian tarantula (*Lycosa singoriensis* Laxmann, 1770) hemocytes in norm and under of the osmotic load*